DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201901051

山芝麻提取物对 10 种植物病原真菌的抑菌活性初探

梁财 [1,2]，陈颖 [1,2]，李昌恒 [1,2]，宋祥民 [1,2]，谢昌平 [1,2]，朱朝华 [1,2]，孙然锋 [1,2*]

(1. 热带农林生物灾害绿色防控教育部重点实验室，海口 570228;
2. 海南大学植物保护学院，海口 570228)

摘要：该文采用菌丝生长速率法，研究了山芝麻根、茎和叶不同溶剂萃取物在 1.5 mg·mL^{-1} 浓度下对 10 种植物病原真菌菌丝生长的抑制活性，用孢子萌发法测试了山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发的抑制作用，用离体法测试了山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病的防治效果，并通过气相与质谱联用技术（Gas Chromatography-Mass Spectrometer，GC-MS）分析了山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物的主要成分，测试了其中 8 种主要化合物对香蕉炭疽病菌菌丝生长的抑制活性。结果表明山芝麻各部分萃取相对 10 种植物病原真菌菌丝生长均具有不同程度的抑制作用，其中，在 1.5 mg·mL^{-1} 浓度下，山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病菌菌丝生长的抑制率分别为 87.00%和 86.14%，其 EC_{50} 分别为 0.062 mg·mL^{-1} 和 0.052 mg·mL^{-1}；浓度在 2 mg·mL^{-1}、4 mg·mL^{-1}、8 mg·mL^{-1} 时，山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发相对抑制率均在 70%以上；在 10 mg·mL^{-1} 浓度下，山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病的防治效果分别为 72.32%和 59.77%；通过气相与质谱联用技术对山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物进行了分析，其中，山芝麻根石油醚相萃取物中共鉴定出 36 种主要化学成分，山芝麻根乙酸乙酯相萃取物中共鉴定出 17 种主要化学成分，选取的 8 种主要化合物中，在 100 μg·mL^{-1} 浓度下，邻苯二甲酸二异丁酯和邻苯二甲酸二丁酯对香蕉炭疽病菌菌丝生长显现较高的抑制活性，抑制率分别为 65.12%和 68.07%，EC_{50} 分别为 56.66 μg·mL^{-1} 和 37.04 μg·mL^{-1}。

关键词：山芝麻，植物病原真菌，抑菌活性，气相与质谱联用技术，邻苯二甲酸二异丁酯，邻苯二甲酸二丁酯

中图分类号：S476　　文献标志码：A

Antifungal activity of extracts of *Helicteres ngustifolia* against ten phytopathogenic fungi

LIANG Cai[1,2], CHEN Ying[1,2], LI Cangheng[1,2], SONG Xiangmin[1,2], XIE, Changping[1,2], ZHU Chaohua[1,2], SUN Ranfeng[1,2]

(1. *Key Laboratory of Green Prevention and Control of Tropical Plant Diseases and Pests (Hainan University), Ministry of Education*, Haikou 570228, China; 2. *College of Plant Protection, Hainan University*, Haikou 570228, China)

Abstract: In this paper, the mycelial growth inhibition activities of different solvent extracts of root, stem and leaf of *Helicteres angustifolia* against 10 plant pathogenic fungi were studied by the mycelium growth rate method at 1.5 mg·mL^{-1}. The inhibitory effects of root petroleum ether and root ethyl acetate extracts of *Helicteres angustifolia* on the spore germination in *Colletotrichum musa* were determined by spore germination method. The control effect of the root petroleum ether and root ethyl acetate extracts of *Helicteres angustifolia* against *Colletotrichum musae* were determined by *in vitro* method. The main components of root petroleum ether and ethyl acetate extracts of *Helicteres angustifolia* were analyzed by gas chromatography-mass spectrometer

资助项目：国家自然科学基金项目项目(No. 21462028)；海南大学高层次人才启动经费项目(kyqd1640) [Supported by the National Natural Science Foundation of China （21462028）; Research Foundation for Advanced Talents of Hainan University (kyqd1640）] 。

作者简介：梁财(1992-), 男，满族，辽宁省本溪人，硕士研究生，研究方向为植物源绿色农药创制及应用，（E-mail）16095104210004@hainu.edu.cn。

通讯作者: 孙然锋, 博士，教授，研究方向为植物源绿色农药创制及应用，（E-mail）srf18@hainu.edu.cn。

(GC-MS), and the mycelial growth inhibition activities of 8 main compounds against *Colletotrichum musa* were tested. The results showed that the each plant extracts of *Helicteres angustifolia* showed different degrees mycelial growth inhibitory effects on 10 plant pathogenic fungi. The mycelial growth inhibition rate of the root petroleum ether and ethyl acetate extracts of *Helicteres angustifolia* against *Colletotrichum musae* reached to 87.00% and 86.14% at 1.5 mg·mL^{-1}, and the EC_{50} values was 0.062 mg·mL^{-1} and 0.052 mg·mL^{-1}, respectively. The relative inhibitory rates of the root petroleum ether and root ethyl acetate extracts of *Helicteres angustifolia* on the spore germination against *Colletotrichum musae* were more than 70% at 2 mg·mL^{-1}, 4 mg·mL^{-1} and 8 mg·mL^{-1}. At 10 mg·mL^{-1} , the control effect of the root petroleum ether and root ethyl acetate extracts of *Helicteres angustifolia* against *Colletotrichum musae* was 72.32% and 59.77%, respectively. The root petroleum ether and root ethyl acetate extracts of *Helicteres angustifolia* were analyzed by GC-MS. In total, 36 major chemical components were identified in the root petroleum ether extracts, 17 major chemical components were identified in the root ethyl acetate extracts. Among the selected 8 major compounds, diisobutyl phthalate and dibutyl phthalate showed higher mycelial growth inhibitory effects against *Colletotrichum musae,* the inhibition rates was 65.12% and 68.07% at 100 μg·mL^{-1}, respectively, the EC_{50} was 56.66 μg·mL^{-1} and 37.04 μg·mL^{-1}, respectively.

Key words: *Helictercs angustifolia*, plant pathogenic fungi, GC-MS, diisobutyl phthalate, dibutyl phthalate

山芝麻（*Helicteres angustifolia*）为梧桐科（*Sterculiaceae*）山芝麻属（*Helicteres*）矮灌木植物，广泛分布在澳大利亚、日本、老挝、中国等许多东南亚国家。其根干燥后作为一种传统的中药，具有治疗流感（Wang & Liu, 1987）、发烧、炎症、糖尿病（Chang et al. , 2001）等功效。目前，对于山芝麻的化学成分研究主要集中在醌类、倍半萜类（Guo et al. , 2005）、酯类（魏映柔等，2011）、三萜类（Chen et al. , 1990）、酚类、黄酮类（Li et al. , 2015）、香豆素类（Chang et al. , 2001）、葫芦素类（Chen et al. , 2006a）、多糖类（Liu et al. , 2018）、类固醇（Chen et al. , 2006b）、木脂素类（Chin et al. , 2006）和生物碱类（Pan et al. , 2008；Wang et al. , 2012）等化合物。 一些关于山芝麻的生物学研究证明，该植物提取物具有抗菌、抗糖尿病、抗氧化、免疫调节功能、抗肿瘤等活性（Lin et al. , 2012；Hu et al. , 2016；Li et al. , 2016）。山芝麻水提物能平衡溃疡性结肠炎大鼠血清中炎症因子水平，并改善其病理组织损伤和症状（高玉桥等，2012）；Huang（2013）在山芝麻中分离出山芝麻甲酯，能够显著缓解由乙型肝炎病毒造成的大鼠肝损伤；Sun (2018，2019) 在山芝麻中提取的一些多糖类物质可以抑制小鼠体内肿瘤的扩散和转移，并进一步对这些多糖体分离纯化，发现了酸性杂多糖类化合物 SPF3-1，此化合物可以显著提高巨噬细胞的增殖力，刺激巨噬细胞的吞噬能力，诱导免疫调节细胞因子生成，具有很强的免疫调节活性；Yang(2019)对山芝麻的愈伤组织进行悬浮培养，并对培养的愈伤组织进行提取，研究发现山芝麻的愈伤组织悬浮液乙醇提取物中含有丰富的酚类、黄酮类、萜类、皂苷类、三萜类化合物，并且具有很强的抗氧化活性以及抑制大鼠体内蔗糖酶和麦芽糖酶活性，还能够增强巨噬细胞增殖能力和吞噬活性。目前，对于山芝麻的研究主要集中在医药领域，用于治疗各种人类疾病，但在农用抑菌活性方面的研究报道还比较少。

本课题组开展了海南植物的抑菌活性筛选，发现山芝麻提取物对植物病原真菌具有一定的抑菌活性，为进一步研究山芝麻的抑菌活性，先用 95%乙醇对山芝麻根、茎、叶三部分进行浸泡提取，然后利用不同有机溶剂制备山芝麻不同相萃取物，研究各相萃取物对 10 种植物病原真菌的抑菌活性，用离体果实法测试了山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病的防治效果，并通过气相与质谱连用技术（Gas Chromatography-Mass Spectrometer，GC-MS）对山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物进行了初步分析。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 山芝麻

山芝麻采自广东省云浮市郁南县宋桂镇，选取生长状况良好的植株，整株采回。

1.1.2 试验药品、试剂及仪器

邻苯二甲酸二异丁酯、邻苯二甲酸二丁酯、棕榈酸乙酯、2,6-二甲氧基苯酚、亚油酸、亚油酸甲酯、

亚油酸乙酯、丁香醛均购买于阿拉丁；95%乙醇、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、DMF（N, N-二甲基甲酰胺）、吐温 80 等采购于西陇科学股份有限公司；0.22 μm 针头过滤器由上海楚定分析仪器有限公司生产，Agilent Technologies 7000 型气相色谱-质谱联用仪由安捷伦科技(中国)有限公司生产，旋转蒸发仪（RV 8）由德国 IKA(中国)有限公司生产，超净工作台（SW-CJ-1D）由苏州净化设备有限公司生产。

1.1.3 供试植物病原菌菌株

供试植物病原菌菌株为火龙果溃疡病菌（*Neoscytalidium dimidiatum*）、苹果轮纹病菌(*Botryosphaeria dothidea*）、香蕉炭疽病菌（*Colletotrichum musae*）、玉蜀黍赤霉病菌（*Gibberella zeae*）、山茶灰斑病菌（*Pestalotipsis guepinii*）、水稻恶苗病菌（*Fusarium moniliforme*）、葡萄灰霉病菌（*Botrytis cinerea*）、油菜菌核病菌（*Sclerotinia sclerotiorum*）、番茄早疫病菌（*Alternaria solani*）和芒果蒂腐病菌（*Botryodiplodia theobromae*），这些菌株均来源于中国农业微生物菌种保藏管理中心（Agricultural Culture Collection of China）和海南大学植物保护学院，菌种保存于 4℃冰箱，活化后备用。

1.1.4 供试培养基

马铃薯葡萄糖琼脂（ Potato dextrose agar，PDA）培养基：马铃薯 200 g，葡萄糖 20 g，琼脂 20 g，蒸馏水 1 L，用于植物病原真菌的培养。

1.2 方法

1.2.1 山芝麻粗提物的制备

将刚采集的新鲜山芝麻整理成根、茎、叶三部分，用蒸馏水冲洗干净，自然晾干，然后放于烘箱 50 ℃烘干，切成 3 cm 长的小段，用粉碎机粉碎均匀。称取山芝麻各部分粉末各 1.5 kg，置于 15 L 95%乙醇中浸泡 24 h、48 h 和 72 h，分别提取有机相，合并有机相并用旋转蒸发仪将其浓缩至膏状，得到的浸膏加适量的水稀释，分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取，三种溶剂萃取过后余下的液体即为水相，最后将各相浓缩至膏状，真空干燥，分别得到山芝麻石油醚相萃取物、乙酸乙酯相萃取物、正丁醇相萃取物和水相萃取物，置于冰箱 4 ℃保存，备用。

1.2.2 气相与质谱联用技术分析条件

气相条件：HP-5MSC 弹性石英毛细管柱(30 m × 250 μm × 0.25 μm)；色谱柱初始温度 60 ℃保持 1 min，以 6 ℃/min 升温至 300 ℃保持 17 min；进样口温度为 250 ℃，载气为氦气，载气流量为 1.0 mL/min；采用不分流模式。

质谱条件：采用电子轰击离子源（Electron impact ion source），电子能量 70 eV，离子源温度 250 ℃，MS 四极杆温度 150 ℃，传输线温度 280 ℃，质量扫描范围（m/z）20-450。

1.2.3 山芝麻各相萃取物对植物病原真菌菌丝生长抑制活性测试

采用菌丝生长速率法（吴文君，1987）对 10 种植物病原真菌进行室内毒力测定。 称取 75 mg 山芝麻各相萃取物溶解于 0.1 mL N,N-二甲基甲酰胺中，用 0.22 μm 针头过滤器过滤，然后在超净工作台中，与 49.9 mL 融化 PDA 培养基混合，配置成山芝麻萃取物浓度为 1.5 mg·mL^{-1} 的培养基，倒入直径 9 cm 的培养皿中冷却凝固。在培养 5 d 的菌种上，用直径为 6 mm 打孔器打取生长整齐一致菌饼，将菌饼移植到培养基中心（1 皿 1 个菌饼），使菌丝面向下接触培养基，28 ℃培养，加入等体积的 N,N-二甲基甲酰胺为空白对照，每个处理重复 3 次，倒置培养。待菌落直径达到 5 cm 以上后，用十字交叉法测量并记录菌落直径，按下述公式计算抑制率。

菌落直径（cm）= 测量直径 - 菌饼直径

菌丝生长抑制率 =[(对照菌落直径 - 处理菌落直径) /对照菌落直径］× 100%

1.2.4 8 种化合物对植物病原菌菌丝生长抑制活性测试

分别称取 1.1.2 的 8 种化合物各 5 mg 溶于 0.1 mL N,N-二甲基甲酰胺中，用 0.22 μm 针头过滤器过滤，然后在超净工作台中，与 49.9 mL 融化 PDA 培养基混合，配置成化合物浓度为 100 μg·mL^{-1} 培养基，其余操作方法同 1.2.3。

1.2.5 山芝麻各相萃取物对植物病原真菌菌丝生长的 EC_{50} 测定

选取对供试植物病原真菌菌丝生长抑制活性在 70%以上的萃取物进行 EC_{50} 测定。将待测萃取物用一定量 N,N-二甲基甲酰胺溶解，用 0.5%吐温-80 水溶液稀释成 1 000、500、250、125、62.5 mg·mL^{-1} 一系列浓度梯度的母液，并用 0.22 μm 针头过滤器过滤。然后在超净工作台中，将 0.1 mL 母液分别与 49.9 mL 融化 PDA 培养基混合，配置成山芝麻萃取物浓度分别为 2 mg·mL^{-1}、1 mg·mL^{-1}、0.5mg·mL^{-1}、0.25 mg·mL^{-1}、

0.125 mg·mL^{-1}的培养基，其余操作方法同 1.2.3。

1.2.6 8 种化合物对植物病原真菌菌丝生长的 EC_{50} 测定

将待测化合物用一定量 N,N-二甲基甲酰胺溶解，用 0.5%吐温-80 水溶液稀释成 7.5 mg·mL^{-1}、5 mg·mL^{-1}、2.5 mg·mL^{-1}、1.25 mg·mL^{-1}和 0.625 mg·mL^{-1}一系列浓度梯度的母液，并用 0.22 μm 针头过滤器过滤。然后在超净工作台中，将 0.1 mL 母液分别与 49.9 mL 融化 PDA 培养基混合，配置成浓度分别为 150 μg·mL^{-1}、100 μg·mL^{-1}、50 μg·mL^{-1}、25 μg·mL^{-1}、12.5 μg·mL^{-1}的培养基，其余操作步骤同 1.2.3。

1.2.7 山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发相对抑制率测定

参考琼脂平板表面萌发法（方中达，2007）。取培养 5 d 的香蕉炭疽病菌，加入 10 mL 无菌水到培养皿中，用涂布棒将分生孢子和菌丝体刮下，3 层纱布过滤掉菌丝体，最后配置成 1×10^7 cfu/mL 的孢子悬浮液。用一定量的 N,N-二甲基甲酰胺溶解萃取物，并用 0.22 μm 针头过滤器过滤，然后与 1 mL PDA 充分混合，最终配置成山芝麻根提取物浓度分别为 8 mg·mL^{-1}、4 mg·mL^{-1}、2 mg·mL^{-1}、1 mg·mL^{-1}、0.5 mg·mL^{-1}、0.25 mg·mL^{-1}的培养基，将含有山芝麻提取物的培养基滴于载玻片上，待凝固后，将 20 μL 孢子悬浮液滴于培养基表面，用涂布棒涂匀，涂布完成后，将载玻片放置在微生物培养箱中，28℃黑暗条件下培养 6 h，含有等比例的 N,N-二甲基甲酰胺的无菌水作为空白对照，每个处理设 3 个重复，按下述公式计算孢子萌发率。

孢子萌发率 ＝(孢子萌发数 / 孢子总数）× 100%

孢子萌发相对抑制率 ＝[(空白孢子萌发率 – 处理孢子萌发率)/空白孢子萌发率] × 100%

1.2.8 离体法测定山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉果实炭疽病的防治效果

将山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物溶于一定量的 N,N-二甲基甲酰胺中，用 0.5%吐温-80 水溶液稀释成 10 mg·mL^{-1}的溶液。挑选成熟且形状、大小比较一致、没有破损和病斑的香蕉，清洗表面，晾干备用。用喷壶，将溶解好的山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物溶液喷施到香蕉表面，每个香蕉喷施 10 mL，用 0.2 mg·mL^{-1}的多菌灵作为阳性对照，无菌水作为空白对照，24 h 后，在香蕉表面喷洒等体积的 1×10^7 cfu/m 香蕉炭疽病菌分生孢子悬浮液，将处理后的香蕉放入塑料盒中，用保鲜膜封好，28℃培养，7d 后，观察发病情况并分级，试验进行 2 次，每次试验 9 个重复,。分级标准如下：

0 级：无病；

1 级：病斑面积占果实面积的 5%以下；

3 级：病斑面积占果实面积的 6%～10%；

5 级：病斑面积占果实面积的 11%～25%；

7 级：病斑面积占果实面积的 26%～50%；

9 级：病斑面积占果实面积的 50%以上。

$$\text{病情指数}=\frac{\sum(\text{各级发病数}\times\text{该级代表值})}{\text{调查总果实数}\times\text{最高级数值}}\times100$$

$$\text{防治效果}=\frac{\text{对照病情指数-处理病情指数}}{\text{对照病情指数}}\times100\%$$

1.2.9 数据分析

应用 Excel、SPSS（Statistical Product and Service Solutions）19.0 等统计软件计算出 R^2、EC_{50} 和毒力回归方程等数据。

2. 结果与分析

2.1 山芝麻各相萃取物抑菌活性初筛

山芝麻各部分萃取物在 1.5 mg·mL^{-1}浓度下对 10 种常见的农业植物病原真菌菌丝生长抑制效果见表 1。各相萃取物均表现出不同程度的菌丝生长抑制活性。其中，山芝麻叶石油醚相萃取物对火龙果溃疡病菌、苹果轮纹病菌、香蕉炭疽病菌、葡萄灰霉病菌、番茄早疫病菌和芒果蒂腐病菌菌丝生长均表现出一定的抑制活性，抑制率均在 50%左右，对油菜菌核病菌菌丝生长的抑制效果最为明显，抑制率达到 83.33%；山芝麻叶正丁醇相萃取物对火龙果溃疡病菌和芒果蒂腐病菌菌丝生长具有一定的抑制活性，抑制率分别达到

51.85%和 55.69%；山芝麻茎石油醚相萃取物对油菜菌核病菌、番茄早疫病菌、芒果蒂腐病菌菌丝生长具有一定的抑制活性，抑制率分别为 51.17%，46.57%，52.61%；山芝麻茎乙酸乙酯相萃取物对火龙果溃疡病菌、苹果轮纹病菌、香蕉炭疽病菌、油菜菌核病菌和芒果蒂腐病菌菌丝生长均具有一定的抑制活性，抑制率均在 55%以上，对苹果轮纹病菌、香蕉炭疽病菌、油菜菌核病菌菌丝生长的抑制效果最为明显，抑制率分别为 71.60%，78.91%，70.19%；山芝麻根石油醚相萃取物对火龙果溃疡病菌、苹果轮纹病菌、香蕉炭疽病菌、葡萄灰霉病菌和油菜菌核病菌菌丝生长均有一定的抑制活性，其中对火龙果溃疡病菌和香蕉炭疽病菌的抑制效果比较明显，抑制率分别为 74.59%和 87.00%；山芝麻根乙酸乙酯相萃取物对火龙果溃疡病菌和香蕉炭疽病菌菌丝生长具有一定的抑制效果，其中对香蕉炭疽病菌菌丝生长抑制效果比较明显，抑制率达到 86.14%。

表 1. 山芝麻各相萃取物对 10 种植物病原真菌菌丝生长抑制活性测试

Table 1. Mycelial growth inhibition activities of different solvent extracts of *Helicteres angustifolia* against 10 plant pathogenic fungi

部位 Part	萃取相 Extract solvent	菌丝生长抑制率（%） Mycelial growth inhibition rate (%)									
		N.D	B.D	C.M	G.Z	P.G	F.M	B.C	SS	A.S	B.T
叶 Leaf	石油醚 Petroleum ether	51.12 ± 0.98Cc	50.88 ± 0.37Dd	50.66 ± 0.27Dd	36.38 ± 0.12Dd	35.15 ± 0.50Cc	22.35 ± 1.13Dd	41.51 ±0.51Dd	83.33 ± 0.34Dd	53.29 ± 0.44 Cc	55.92 ± 0.86 Cc
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	37.40 ± 0.41Bb	17.37 ± 0.35Bb	35.88 ± 0.75Cc	20.38 ± 0.21Bb	-13.34 ± 0.45Aa	6.11 ± 0.56Bb	3.00 ± 0.14Cc	10.78 ± 1.22Cc	25.62 ± 0.50 Bb	23.31 ± b0.48B
	正丁醇 N-butanol	51.85 ± 0.16Cc	20.22 ± 0.02Cc	9.59 ± 0.44Bb	21.91 ± 0.31Cc	-0.55 ± 0.01Bb	10.72 ± 0.26Cc	-21.69 ± 0.88Bb	9.41 ± 1.02Bb	25.67 ± 0.26 Bb	55.69 ± 0.53aC
	水 Water	16.93 ± 1.06Aa	11.46 ± 0.31Aa	6.99 ± 0.16Aa	12.16 ± 0.13Aa	-13.34 ± 0.53Aa	-4.29 ± 0.09Aa	-24.34 ± 0.88Aa	4.71 ± 0.59Aa	18.77 ± 0.31 Aa	20.11 ± 0.88Aa
茎 Stem	石油醚 Petroleum ether	20.55 ± 0.34Bb	27.88 ± 0.02Db	25.48 ± 0.36Cc	28.61 ± 0.40Cc	-1.27 ± 0.40Cc	10.01 ± 1.13Cc	19.46 ± 0.41Cc	51.17 ± 1.02Cc	46.57 ± 0.63 Dd	52.61 ± 0.47Cc
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	66.83 ± 0.11Cc	71.60 ± 0.02Cc	78.91 ± 1.01Dd	33.72 ± 0.35Bb	23.33 ± 0.43Dd	23.65 ± 1.13Dd	39.74 ± 0.31Dd	70.19 ± 0.28Dd	32.57 ± 0.32 Cc	57.72 ± 0.26Dd
	正丁醇 N-butanol	17.61 ± 0.46Ad	27.68 ± 0.39Bb	18.26 ±0.17Bb	16.27 ± 0.63Dd	-3.27 ± 0.25Bb	4.16 ± 0.55Aa	-5.82 ± 0.15Bb	13.14 ±0.50Bb	12.33 ± 0.84 Bb	25.47 ± 0.28Bb
	水 Water	16.46 ± 1.50Aa	10.43 ± 0.88Aa	3.81 ± 0.00Aa	11.10 ± 0.23Aa	-8.18 ± 0.09Aa	6.11 ± 0.56Bb	-13.46 ± 0.51Aa	4.12 ± 0.59Aa	1.29 ± 0.31 Aa	8.67 ± 0.28Aa

续表 1

部位 Part	萃取相 Extract solvents	菌丝生长抑制率（%） Mycelial growth inhibition rate (%)									
		N.D	B.D	C.M	G.Z	P.G	F.M	B.C	S.S	A.S	B.T
根 Roots	石油醚 Petroleum ether	74.59 ± 0.46Dc	65.08 ±0.79Dd	87.00 ± 0.87Cc	41.08 ± 0.60Dd	39.39 ± 0.14Dd	39.57 ± 0.98Cd	46.80 ± 0.51Dd	54.12 ± 1.43Dd	14.65 ± 0.61 Cc	26.02 ± 1.10Dd
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	49.10 ± 0.62Cb	38.95 ± 0.49Cc	86.14 ± 0.00Cc	32.59 ± 0.46Cc	15,45 ± 0.36Cc	18.45 ± 0.61Bc	28.28 ± 0.32Cc	42.15 ± 0.34Cc	15.66 ± 0.28 Dd	24.06 ± 0.94Cc
	正丁醇 N-butanol	15,46 ± 0.40Aa	23.34 ± 0.76Bb	44.54 ± 0.75Bb	19.59 ± 0.41Bb	-9.42 ± 0.37Bb	10.01 ± 0.54Ab	-7.88 ± 0.56Bb	15.41 ± 0.10Bb	9.01 ± 0.09 Bb	21.96 ±0.58Bb
	水 Water	16.27 ± 0.57Ba	10.56 ± 0.15Aa	8.4 ± 0.44Aa	10.03 ± 0.80Aa	-10.91 ± 0.91Aa	8.70 ± 0.66Aa	-12.87± 0.20Aa	6.83 ± 0.65Aa	6.51 ±0.42 Aa	9.49 ± 0.54 Aa

注：**N.D.**火龙果溃疡病菌；**B.D.**苹果轮纹病菌；**C.M.** 香蕉炭疽病菌；**G.Z.** 玉蜀黍赤霉病菌；**P.G.** 山茶灰斑病菌；**F.M.** 水稻恶苗病菌；**B.C.** 葡萄灰霉病菌；**S.S.** 油菜菌核病菌；**A, S.**番茄旱疫病菌；**B. T.** 芒果蒂腐病菌。表中不同小写字母表示同一部位不同萃取相对同一种病菌菌丝生长抑制率在 0.05 水平上差异显著，不同大写字母表示同一部位不同萃取相对同一种病菌菌丝生长抑制率在 0.1 水平上差异显著。

Note: **N.D.** *Neoscytalidium dimidiatum*; **B.D.** *Botryosphaeria dothidea*; **C.M.** *Colletotrichum musae*; **G.Z.** *Gibberella zeae*; **P.G.** *Pestalotipsis guepinii*; **F.M.** *Fusarium moniliforme*; **B.C.** *Botrytis cinerea*; **S. S.** *Sclerotinia sclerotiorum*; **A.S.** *Alternaria solani*; **B.T.** *Botryodiplodia theobromae.* In the table, the different lowercase letters indicate the significance of mycelial growth inhibition rate of different extracts from the same part at 0.05 level, the different capital letters indicate the significance of mycelial growth inhibition rate of different extracts from the same part at 0.1 level.

2.2 山芝麻各相萃取物对 4 种植物病原菌菌丝生长的 EC_{50} 测定

通过使用 SPSS19.0 软件计算出 4 种萃取物对 4 种植物病原真菌菌丝生长的 EC_{50}，结果如表 2 所示。山芝麻叶石油醚相萃取物对油菜菌核病菌菌丝生长的 EC_{50} 为 0.703 mg·mL^{-1}；山芝麻茎乙酸乙酯相萃取物对苹果轮纹病菌、香蕉炭疽病菌和油菜菌核病菌菌丝生长的 EC_{50} 分别为 1.067 mg·mL^{-1}、0.635 mg·mL^{-1} 和 1.178 mg·mL^{-1}；山芝麻根石油醚相萃取物对火龙果溃疡病菌、苹果轮纹病菌和香蕉炭疽病菌菌丝生长的 EC_{50} 分别为 0.945 mg·mL^{-1}、1.149 mg·mL^{-1} 和 0.062 mg·mL^{-1}；山芝麻根乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病菌菌丝生长的 EC_{50} 为 0.052 mg·mL^{-1}。

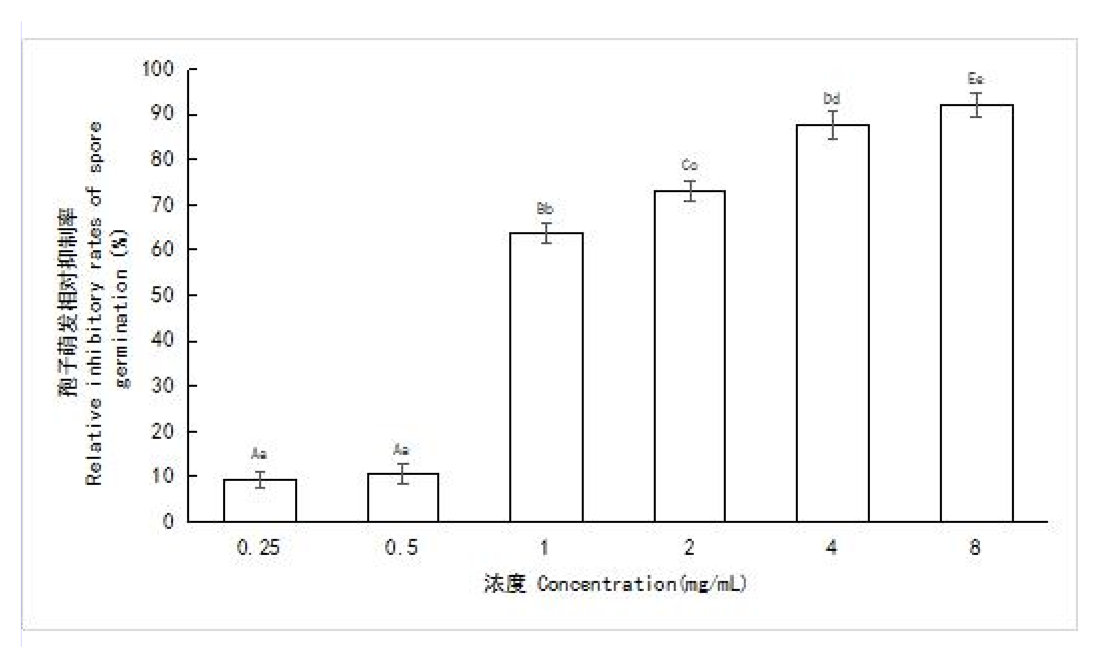
表 2 4 种溶剂萃取物对 4 种植物病原真菌菌丝生长的 EC_{50} 值

Table 2 EC_{50} values of four solvent extracts of *Helicteres angustifolia* against four phytopathogenic fungi

萃取相 Extract solvent	菌株 Strain	EC_{50} (mg·mL^{-1})	毒力回归方程 Toxic regression equation	R^2
叶石油醚相 Leave petroleum ether extract	油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum*	0.703	$y = 0.755 + 4.929x$	0.997
茎乙酸乙酯相 Stem ethyl acetate extract	苹果轮纹病菌 *Botryosphaeria dothidea*	1.067	$y = -0.135 + 4.770x$	0.929
	香蕉炭疽病菌 *Colletotrichum musae*	0.635	$y = 0.702 + 3.556x$	0.983
	油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum*	1.178	$y = -0.410 + 5.773x$	0.973
根石油醚相 Root petroleum ether extract	火龙果溃疡病菌 *Neoscytalidium dimidiatum*	0.945	$y = 0.113 + 4.624x$	0.983
	苹果轮纹病菌 *Botryosphaeria dothidea*	1.149	$y = -0.138 + 6.320x$	0.988
	香蕉炭疽病菌 *Colletotrichum musae*	0.062	$y =-2.174 + 1.214x$	0.991
根乙酸乙酯相 Root ethyl acetate extract	香蕉炭疽病菌 *Colletotrichum musae*	0.052	$y = -1.989 + 1.158x$	0.994

2.3 山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发相对抑制率测定

山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发相对抑制率测定的结果如图 1 和图 2 所示。由图 1 可知，山芝麻根石油醚相萃取物对香蕉炭疽菌分生孢子萌发具有一定的抑制活性，随着石油醚相萃取物浓度的增加，其对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发的抑制作用显著增强，浓度在 1 mg·mL^{-1}、2 mg·mL^{-1}、4 mg·mL^{-1} 和 8 mg·mL^{-1} 时，孢子萌发相对抑制率均在 60%以上，相对抑制率分别为 63.59%、73.13%、87.78%和 92.13%，浓度为 0.5 mg·mL^{-1} 和 0.25 mg·mL^{-1} 时，对孢子萌发的抑制活性明显下降，孢子萌发相对抑制率分别为 10.50%和 9.50%；由图 2 可知，山芝麻根乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发也具有一定的抑制活性，与石油醚相萃取物相比，在同等浓度下，对孢子萌发的抑制活性略差，随着乙酸乙酯相萃相取物浓度的增加，其对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发的抑制作用也成明显的上升趋势，浓度在 2 mg·mL^{-1}、4 mg·mL^{-1} 和 8 mg·mL^{-1} 时，孢子萌发相对抑制率均在 70%以上，相对抑制率分别为 71.42%、81.58%和 90.75%，浓度为 1 mg·mL^{-1}、0.5 mg·mL^{-1} 和 0.25 mg·mL^{-1} 时，对孢子萌发的抑制活性明显下降，孢子萌发相对抑制率分别为 31.86%、11.73%和 2.23%。

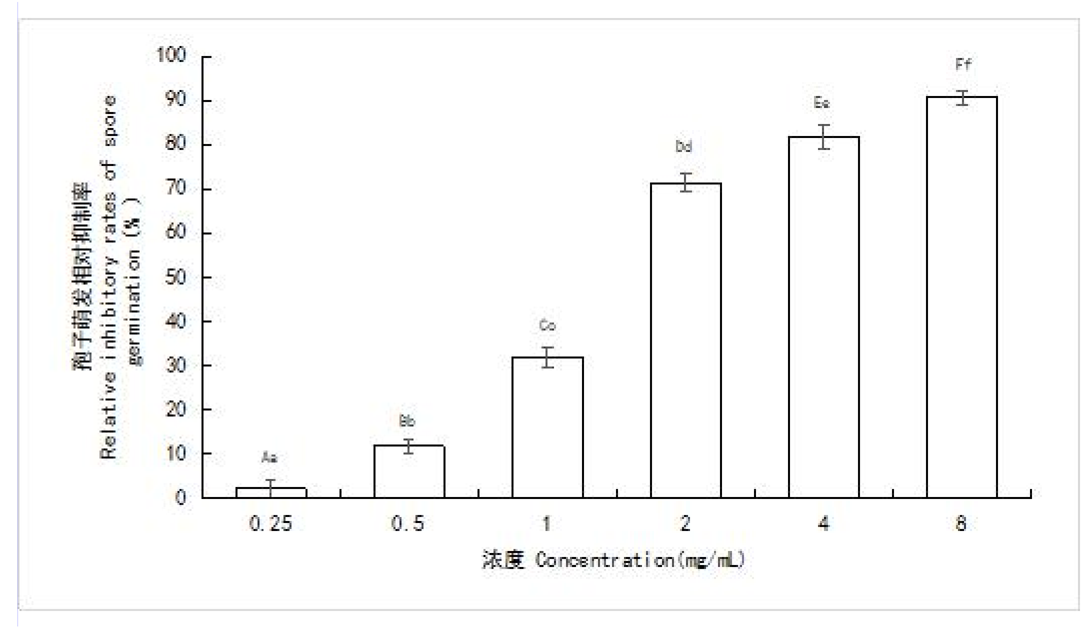


注：不同小写字母表示不同浓度的孢子萌发相对抑制率在 0.05 水平上差异显著，不同大写字母表示不同浓度的孢子萌发相对抑制率在 0.1 水平上差异显著。

Note：Different lowercase letters indicate the significance of inhibition rate of spore germination of different concentrations at 0.05 level, the different capital letters indicate the significance of inhibition rate of spore germination of different concentrations at 0.1 level.

图 1. 山芝麻根石油醚相萃取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发相对抑制率

Fig. 1 Relative inhibitory rates of spore germination of the root petroleum ether extracts of *Helicteres angustifolia* to *Colletotrichum musae* conidia



注：不同小写字母表示不同浓度的孢子萌发相对抑菌率在 0.05 水平上差异显著，不同大写字母表示不同浓度的孢子萌发相对抑制率在 0.1 水平上差异显著。

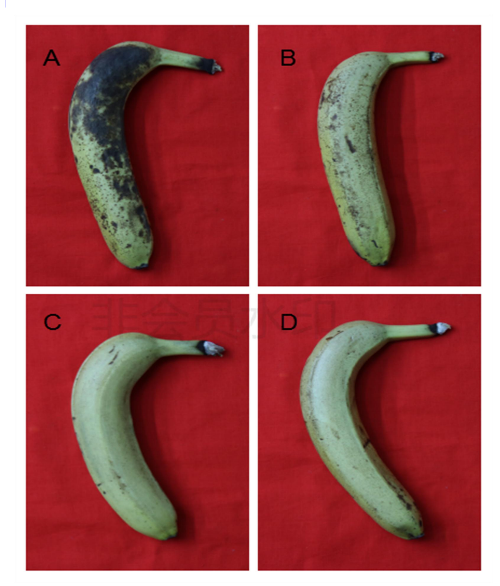
Note：Different lowercase letters indicate the significance of inhibition rate of spore germination of different concentrations at 0.05 level, the different capital letters indicate the significance of inhibition rate of spore germination of different concentrations at 0.1 level.

图 2. 山芝麻根乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发相对抑制率

Fig. 2. The relative inhibitory rates of spore germination of the root ethyl acetate extracts of *Helicteres angustifolia* to *Colletotrichum musae*

2.4 离体法测定山芝麻石油醚相萃取物和乙酸乙酯相萃取物对香蕉果实炭疽病的防治效果。

经过山芝麻石油醚相萃取物和乙酸乙酯相萃取物处理过的香蕉，一周后仍处于轻微的发病状态，而空白对照组的香蕉已经出现大量病斑，开始变黑腐烂（图 3）。山芝麻石油醚相萃取物和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽菌的活体抑菌活性测试结果如表 3 所示。经过 10 mg·mL^{-1} 的山芝麻石油醚相萃取物和乙酸乙酯相萃取物处理过的香蕉的病情指数分别为 24.69 和 35.80，而空白对照处理组的香蕉的病情指数为 88.89，在 10 mg·mL^{-1} 浓度下的的山芝麻石油醚相萃取物和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病的防治效果分别为 72.32%和 59.77.%，与 0.2 mg·mL^{-1} 的多菌灵相比，防治效果均好于多菌灵。



注：**A**：空白对照；**B**：多菌灵处理；**C**：山芝麻根石油醚相萃取物处理；**D**：山芝麻根乙酸乙酯相萃取物处理。

Note: **A**: control check; **B**: carbendazim; **C**: root petroleum ether extracts; **D**: root ethyl acetate extracts.

图 3 离体法测定山芝麻石油醚和乙酸乙酯相萃取物对香蕉果实炭疽病的防治效果

Fig. 3 Control effect of the root petroleum ether and root ethyl acetate extracts of *Helicteres angustifolia* against *Colletotrichum musae* by *in vitro* method

表 3 离体法测试山芝麻根石油醚和乙酸乙酯相萃取物对香蕉果实炭疽病的防治效果

Table 3 Control effect of the root petroleum ether and root ethyl acetate extracts of *Helicteres angustifolia* against *Colletotrichum musae* by *in vitro* method

萃取相 Extract solvents	病情指数 Disease index		防治效果(%) Control effect（%）	
	0.2 mg·mL^{-1}	10 mg·mL^{-1}	0.2 mg·mL^{-1}	10 mg·mL^{-1}
山芝麻根石油醚相 Root petroleum ether extract	-	24.69 ± 1.75Aa	-	72.32 ± 3.33Bb
山芝麻根乙酸乙酯相 Root ethyl acetate extract	-	35.80 ± 3.49Bb	-	59.77 ± 1.56Aa
多菌灵 carbendazim	38.27 ± 3.49Bb	-	56.75 ± 6.48Aa	-

注：-表示未测试数据。不同小写字母表示不同处理组的病情指数和防治效果在 0.05 水平上差异显著，不同大写字母表示不同处理组的病情指数和防治效果在 0.1 水平上差异显著。

Note：- indicates no test data.Different lowercase letters indicate the significance of disease index and control effect of different treatment groups at 0.05 level, different capital letters indicate the significance of disease index and control effect of different treatment groups at 0.1 level.

2.5 山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物 GC-MS 分析

通过 GC-MS 对山芝麻根石油醚相萃取物和乙酸乙酯相萃取物进行了分析（图 4、图 5），采用面积归一化法进行简单定量分析。

山芝麻根石油醚相萃取物中有 36 种主要化合物（表 4），其中，酯类占 14 种，相对含量为 21.07%；酮类占 6 种，相对含量为 6.41%；醇类占 5 种，相对含量为 5.54%；酸类占 5 种，相对含量为 4.11%；烯烃类占 4 种，相对含量为 6.76%；烷烃类和酰胺类各占 1 种，相对含量分别为 0.04%和 0.74。酯类含量较高的为棕榈酸乙酯、油酸乙酯、邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二异丁酯和亚油酸乙酯，相对含量分别为 10.14%、2.37%、1.50%、1.39%和 1.15%；酮类含量较高的为 1-(2-(3-isopropylfuran-2-yl)-3-methylcyclopentyl)ethenone、2'-isopropyl-5',6-dimethyl-7-oxaspiro [bicyclo[4.1.0] heptane- 3,1'- cyclopentan]-5-one 和二苯甲酮等，相对含量分别为 2.02%、1.58%和 1.55%；醇类含量较高的为 8-isopropyl-2,5-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-1-ol 和 4',5-dimethoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ol，相对含量分别为 2.45%和 1.30%；酸类含量较高的为亚油酸，相对含量为 3.04%；烯烃类含量较高的为邻二甲苯和角鲨烯，相对含量分别为 3.83%和 2.52%。

山芝麻根乙酸乙酯相萃取物中有 17 种主要化合物（表 5）, 其中，酯类占 8 种，相对含量为 19.99%；酚类占 5 种，相对含量为 11.31%；醛类占 2 种，相对含量为 3.38%；酸类和烯烃类各占 1 种，相对含量分别为 1.26%和 1.11%。酯类含量较高的为棕榈酸乙酯、11-octadecenoic acid, methyl ester、亚油酸甲酯和亚油酸乙酯，相对含量分别为 5.52%、4.23%、3.91%和 3.62%；酚类含量较高的为苯酚、2,6-二甲氧基苯酚和 4-乙烯基-2-甲氧基苯酚，相对含量分别为 6.91%、2.06%和 1.20%；醛类含量较高的为丁香醛，相对含量为 2.29%；酸类的棕榈酸相对含量为 1.26%；烯烃类的 4,5,6,7-tetraethyl-1-methyl-2,3- dihydro -1H-indene 相对含量为 1.11%。

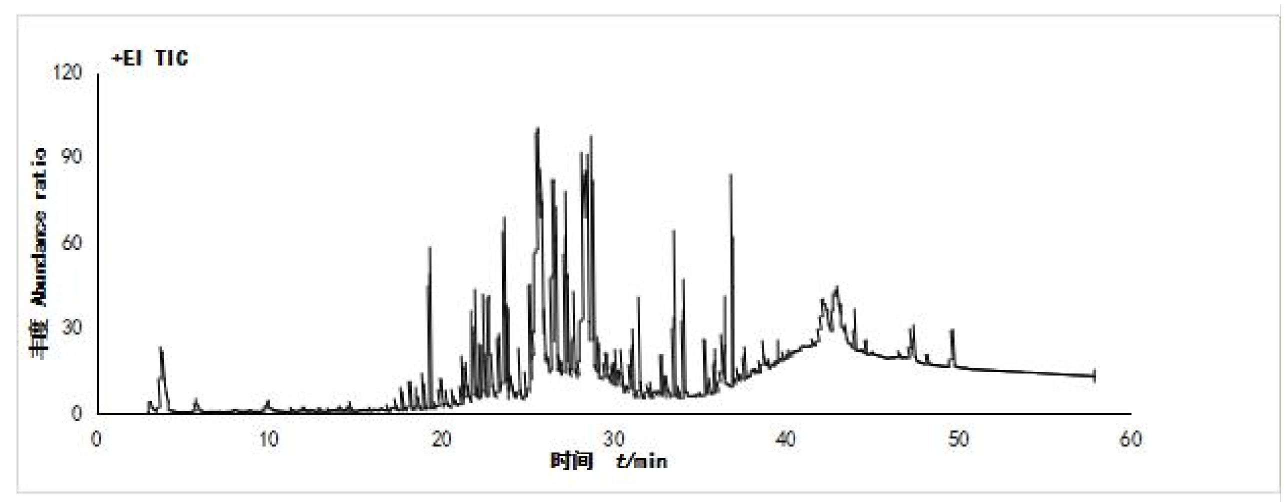


图 4 山芝麻根石油醚相萃取物的总离子流色谱图

Fig. 4 Total ion current chromatogram of root petroleum ether extracts of *Helictercs angustifolia*

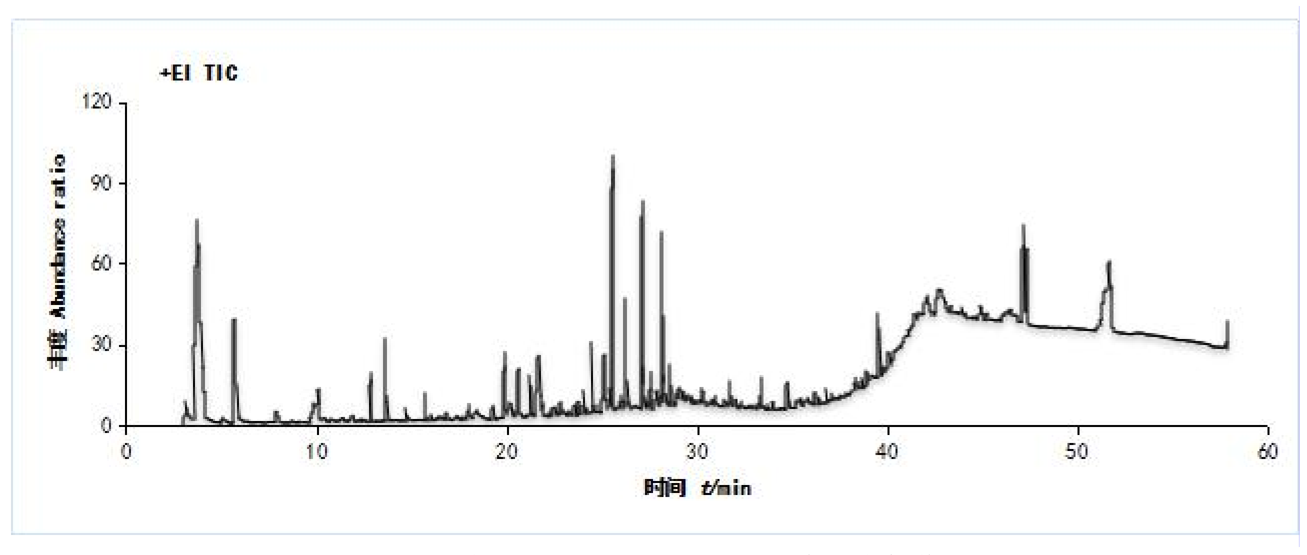


图 5 山芝麻根乙酸乙酯相萃取物的总离子流色谱图

Fig. 5 Total ion current chromatogram of root ethyl acetate extracts of *Helictercs angustifolia*

表 4 山芝麻根石油醚相萃取物的 GC-MS 分析

Table 4 GC-MS analysis of petroleum ether extracts of root of *Helictercs angustifolia*

序号 Order number	化合物 Compound	化学式 Chemical formula	保留时间(min) Retention time	相对含量(%) Relative content
1	邻二甲苯 1,2-xylene	C_8H_{10}	3.785	3.83
2	苯甲酸 benzoic acid	$C_7H_6O_2$	10.080	0.42
3	己二酸二甲酯 hexanedioic acid, dimethyl ester	$C_8H_{14}O_4$	11.315	0.04
4	3-nonen-2-one	$C_9H_{16}O$	13.493	0.02
5	正癸酸 n-decanoic acid	$C_{10}H_{20}O_2$	14.112	0.05
6	环十四烷 cyclotetradecane	$C_{14}H_{28}$	14.561	0.04
7	(E)-6,10-dimethylundeca-5,9-dien-2-one	$C_{13}H_{22}O$	15.835	0.02
8	9-氧代壬酸乙酯 nonanoic acid, 9-oxo-, ethyl ester	$C_{11}H_{20}O_3$	16.886	0.04
9	1-isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,3,5,6,8a-hexahydronaphthalene	$C_{15}H_{24}$	17.328	0.09
10	月桂酸 lauric acid	$C_{12}H_{24}O_2$	18.190	0.48
11	愈创萜醇 guaiol	$C_{15}H_{26}O$	18.960	0.48
12	二苯甲酮 benzophenone	$C_{13}H_{10}O$	19.353	1.55
13	蓝桉醇 globulol	$C_{15}H_{26}O$	20.014	0.49
14	2'-isopropyl-5',6-dimethyl-7-oxaspiro[bicyclo[4.1.0]heptane-3,1'-cyclopentan]-5-one	$C_{15}H_{24}O_2$	21.831	1.58
15	2-hydroxy-4a,5-dimethyl-3-(prop-1-en-2-yl)octahydronaphthalen-1(2H)-one	$C_{15}H_{24}O_2$	22.502	1.22
16	8-isopropyl-2,5-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-1-ol	$C_{15}H_{22}O$	22.767	2.45
17	邻苯二甲酸二异丁酯 diisobutyl phthalate	$C_{16}H_{22}O_4$	23.626	1.39
18	1-(2-(3-isopropylfuran-2-yl)-3-methylcyclopentyl)ethanone	$C_{15}H_{22}O_2$	23.713	2.02
19	7-isopropyl-1,4-dimethylazulen-2-ol	$C_{15}H_{18}O$	23.898	0.82
20	邻苯二甲酸二丁酯 dibutyl phthalate	$C_{16}H_{22}O_4$	25.158	1.50
21	棕榈酸乙酯 hexadecanoic acid, ethyl ester	$C_{18}H_{36}O_2$	25.614	10.14
22	十八碳烯酸甲酯 9-octadecenoic acid,methyl ester	$C_{19}H_{36}O_2$	27.326	0.88
23	4',5-dimethoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ol	$C_{14}H_{14}O_3$	27.716	1.30
24	亚油酸 linoleic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	28.210	3.04
25	亚油酸乙酯 linoleic acid ethyl ester	$C_{20}H_{36}O_2$	28.300	1.15
26	油酸乙酯 ethyl oleate	$C_{20}H_{38}O_2$	28.457	2.37
27	三甲沙林 trioxsalen	$C_{14}H_{12}O_3$	29.142	0.31
28	十九烷酸乙酯 ethyl nonadecanoate	$C_{21}H_{42}O_2$	30.131	0.19
29	cis-10-Nonadecenoic acid	$C_{19}H_{36}O_2$	29.957	0.12
30	亚麻酸乙酯 (Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienoic acid, ethyl ester	$C_{20}H_{34}O_2$	30.907	0.24
31	油酸酰胺 oleamide	$C_{18}H_{35}NO$	31.109	0.74
32	二十烷酸乙酯 eicosanoic acid, ethyl ester	$C_{16}H_{22}O_4$	31.49	0.77
33	硬脂酸乙酯 octadecanoic acid, ethyl ester	$C_{20}H_{40}O_2$	32.800	0.27
34	1,2-benzenedicarboxylic acid, 1,2-bis(2-propylpentyl) ester	$C_{24}H_{38}O_4$	33.517	1.77
35	1,3-benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	$C_{24}H_{38}O_4$	35.901	0.36
36	角鲨烯 squalene	$C_{30}H_{50}$	36.886	2.52

表 5 山芝麻根乙酸乙酯相萃取物的 GC-MS 分析

Table 5 GC-MS analysis of ethyl acetate extracts of root of *Helictercs angustifolia*

序号 Order number	化合物 Compound	化学式 Chemical formula	保留时间(min) Retention time	相对含量(%) Relative content
1	苯酚 phenol	C_6H_6O	5.733	6.91
2	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚 2-methoxy-4-vinylphenol	$C_9H_{10}O_2$	12.898	1.20
3	2,6-二甲氧基苯酚 2,6-dimethoxyphenol	$C_8H_{10}O_3$	13.698	2.06
4	(Z)-2-methoxy-4-(prop-1-en-1-yl)phenol	$C_{10}H_{12}O_2$	15.783	0.57
5	丁香醛 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyde	$C_9H_{10}O_4$	19.948	2.29
6	(E)-2,6-dimethoxy-4-(prop-1-en-1-yl)phenol	$C_{11}H_{14}O_3$	20.669	0.57
7	松柏醛 coniferyl aldehydel	$C_{10}H_{10}O_3$	21.285	1.09
8	棕榈酸甲酯 methyl hexadecanoate	$C_{17}H_{34}O_2$	24.503	1.35
9	棕榈酸 n-hexadecanoic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	25.193	1.26
10	棕榈酸乙酯 ethyl hexadecanoate	$C_{18}H_{36}O_2$	25.617	5.52
11	亚油酸甲酯 methyl linoleate	$C_{19}H_{34}O_2$	27.166	3.91
12	11-octadecenoic acid, methyl ester	$C_{19}H_{36}O_2$	27.263	4.23
13	亚油酸乙酯 linoleic acid ethyl ester	$C_{20}H_{36}O_2$	28.175	3.62
14	油酸乙酯 ethyl oleate	$C_{20}H_{38}O_2$	28.265	1.63
15	硬脂酸乙酯 octadecanoic acid, ethyl ester	$C_{20}H_{40}O_2$	28.641	0.72
16	4,5,6,7-tetraethyl-1-methyl-2,3-dihydro-1H-indene	$C_{18}H_{28}$	31.766	1.11
17	邻苯二甲酸二异辛酯 diisooctyl phthalate	$C_{24}H_{38}O_4$	33.444	0.64

2.6 .8 种化合物对香蕉炭疽病菌菌丝生长抑制活性测试

通过 GC-MS 分析，检测出山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物的主要成分，其中，邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二异丁酯、棕榈酸乙酯、2,6-二甲氧基苯酚、亚油酸、亚油酸甲酯、亚油酸乙酯、丁香醛 8 种化合物相对含量较高，均在 1%以上，可以认为这 8 种物质为这两种萃取物中的主要物质。山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病菌菌丝生长抑制活性最好（表 2），故作为这 8 种化合物的筛选靶标，测试这 8 种化合物对香蕉炭疽病菌菌丝生长抑制活性。由表 6 可知，在 100 $\mu g \cdot mL^{-1}$ 浓度下，邻苯二甲酸二异丁酯和邻苯二甲酸二丁酯对香蕉炭疽病菌菌丝生长表现出较高的抑制活性，抑制率分别为 65.12%和 68.07%，EC_{50} 分别为 56.66 $\mu g \cdot mL^{-1}$ 和 37.04 $\mu g \cdot mL^{-1}$。

表 6 8 种化合物对香蕉炭疽病菌菌丝生长抑制活性和 EC_{50} 测试

Table 6 Mycelial growth inhibition activities and EC_{50} values of eight Compounds against *Colletotrichum musae*

化合物 Compound	菌丝生长抑制率（%） Mycelial growth inhibition rate	EC_{50}（$\mu g \cdot mL^{-1}$）
邻苯二甲酸二异丁酯 Diisobutyl phthalate	65.12 ± 1.13 Fe	56.66
邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	68.07 ± 1.35Gf	37.04
棕榈酸乙酯 Hexadecanoic acid, ethyl ester	-2.49 ± 2.02Aa	-
2,6-二甲氧基苯酚 2,6-dimethoxyphenol	7.29 ± 2.24Dc	-
亚油酸 Linoleic acid	0.51 ± 1.97Bb	-
亚油酸甲酯 Methyl linoleate	7.29 ± 0.58Dc	-
亚油酸乙酯 Linoleic acid ethyl ester	3.03 ± 1.33Cb	-
丁香醛 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyde	10.95 ± 0.62Ed	-

注：-表示未测试数据。.表中不同小写字母表示不同处理组的菌丝生长抑制率在 0.05 水平上差异显著，不同大写字母表示不同处理组的菌丝生长抑制率在 0.1 水平上差异显著。

Note：- indicates no test data.Different lowercase letters indicate the significance of mycelial growth inhibition rate of different treatment groups at 0.05 level, different capital letters indicate the significance of mycelial growth inhibition rate of different treatment groups at 0.1 level.

3. 讨论与结论

在医药领域，关于山芝麻的化学成分和药用价值的相关研究报道已经有很多了，这些研究报道已经证实山芝麻具有抗菌、抗糖尿病、抗氧化、免疫调节功能、抗肿瘤等活性，但关于山芝麻在农用方面的抑菌效果及其抑菌成分的研究鲜见报道。本研究用 95%乙醇对山芝麻根、茎和叶进行浸提，并用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇对山芝麻乙醇提取物进行萃取，用生长速率法测试了山芝麻各相萃取物在 1.5 $mg \cdot mL^{-1}$ 浓度下对 10 种植物病原真菌菌丝生长抑制活性，用孢子萌发法测定了山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发的抑制作用, 用离体法测试了山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病的防治效果，并通过气相与质谱联用技术(GC-MS)分析了山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物的主要成分，测试了其中 8 种主要化合物对香蕉炭疽病菌的抑菌活性。研究发现，相比较而言，山芝麻根部提取物的抑菌活性要高于茎部和叶部，这说明山芝麻根、茎、叶三部分所含的抑菌活性物质有所不同，其中，山芝麻根部石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病菌菌丝的生长抑制效果较明显，抑制率均在 80%以上；在测试孢子萌发抑制活性实验中，浓度在 2 $mg \cdot mL^{-1}$、4 $mg \cdot mL^{-1}$ 和 8 $mg \cdot mL^{-1}$ 时，山芝麻根部石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发相对抑制率均在 70%以上，这说明山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物不仅仅能抑制香蕉炭疽病菌菌丝的生长，还能对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发起到一定的抑制作用；在离体果实病害防治试验中，山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病表现出较好的防治效果，在 10 $mg \cdot mL^{-1}$ 浓度下的山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉炭疽病的防治效果分别为 72.32%和 59.77%，其防治效果均好于 0.2 $mg \cdot mL^{-1}$ 的多菌灵，此实验结果可以说明，山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物对香蕉果实具有一定的保护作用，在未来具有发展成一种水果保鲜剂的潜力。

为进一步研究山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物的抑菌成分，采用气相与质谱联用技术对这两种萃取物进行了分析，其中，山芝麻根石油醚相萃取物中有 36 种主要化学成分，主要成分为棕榈酸乙酯（10.14%）、邻二甲苯（3.83%）、亚油酸（3.04%）、角鲨烯（2.52%）、邻苯二甲酸二丁酯（1.50%）、邻苯二甲酸二异丁酯（1.39%）、亚油酸乙酯（1.15%）等；山芝麻根乙酸乙酯相萃取物中有 17 种主要化学成分，分别为苯酚（6.91%）、棕榈酸乙酯（5.52%、）、亚油酸甲酯（3.91%）、亚油酸乙酯（3.62%）、丁香醛（2.29%）、棕榈酸（1.26%）、4-乙烯基-2-甲氧基苯酚（1.20%）等。选取山芝麻根石油醚相和乙酸乙酯相萃取物中 8 种主要化合物，以香蕉炭疽病菌作为靶标，进行了菌丝生长抑制活性测试，其中，在 100 μg·mL^{-1} 浓度下，邻苯二甲酸二异丁酯和邻苯二甲酸二丁酯对香蕉炭疽病菌菌丝生长抑制活性显现出较高的抑制活性，EC_{50} 分别为 56.66 μg·mL^{-1} 和 37.04 μg·mL^{-1}，虽然抑菌活性并不是特别理想，但可以说明，这两种化合物有可能是提取物中的抑菌活性成分，为从山芝麻中进一步发现抑菌活性先导化合物和开发植物源杀菌剂提供理论依据。

该文只对山芝麻的抑菌活性进行了初步探索，关于山芝麻的抑菌活性化合物分离鉴定、抑菌机理、作用方式以及在大田试验中对农作物病害的防治效果，有待进一步探讨。

参考文献：

CHANG YS, KU YR, LIN JH, et al. , 2001. Analysis of three lupane type triterpenoids in *helicteres angustifolia* by high-performance liquid chromatography[J]. J Pharmaceut Biomed Anal, 26(5-6): 849-855.

CHIN YW, JONES WP, RACHMAN I, et al. , 2006. Cytotoxic lignans from the stems of *helicteres hirsuta* collected in indonesia[J]. Phytother Res, 20(1): 62-65.

CHEN ZT, LEE SW, CHEN CM, et al. , 2006a. Cucurbitacin b 2-sulfate and cucurbitacin glucosides from the root bark of *helicteres angustifolia*[J]. Chem Pharm Bull Tokyo, 54(11): 1605-1607.

CHEN WL, TANG WD, LOU LG, et al. , 2006b. Pregnane, coumarin and lupane derivatives and cytotoxic constituents from *Helicteres angustifolia*[J]. Phytochemistry, 67: 1041-1047.

CHEN CM, CHEN ZT, HONG YL, 1990. A mansonone from *Helicteres angustifolia*[J]. Phytochemistry, 29: 980-982.

FANG ZD, 2007. Method of plant disease research [M]. 3 ed. Beijing: China Agric Press: 142-156. [方中达，2007．植病研究方法[M]． 第 3 版． 北京：中国农业出版社：142-156．]

GUO XD, BAO YD, AN LK, et al. , 2005. Two new sequiterpenoids from *Helicteres angustifolia*[J]. Chin Chem Lett, 16(1): 49-52.

GAO YQ, SU D, HU Y, et al. , 2013. Effect of *Helicteres angustifolia* on rats with Ulcerative Colitis[J]. J Chin Med Mat, 36(4): 597-600. [高玉桥，苏丹，胡莹，等，2013． 山芝麻对大鼠溃疡性结肠炎的影响[J]． 中药材，36(4)：597-600．]

HU XS, CHENG DL, LI KJ, et al. , 2016. Glucose consumption and alpha-glucosidase inhibitory activities of aqueous root extract of *helicteres angustifolia*[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 20(7): 1423-1429.

HUANG QF, HUANG RB, WEI L, et al. , 2013. Antiviral activity of methyl helicterate isolated from *helicteres angustifolia* (sterculiaceae) against hepatitis b virus[J]. Antivir Res, 100(2): 373-381.

LI KJ, YANG X, HU XS et al. , 2016. *In vitro* antioxidant, immunomodulatory and anticancer activities of two fractions of aqueous extract from *helicteres angustifolia L*. root[J]. J Taiwan Inst Chem Eng, 61: 75-82.

LI KJ, LEI ZF, HU XUet al. , 2015. *In vitro* and *in vivo* bioactivities of aqueous and ethanol extracts from *helicteres angustifolia L*. root[J]. J Ethnopharmacol, 172: 61-69.

LIN X, HUANG RB, ZHANG SJ, et al. , 2012. Methyl helicterate protects against ccl4-induced liver injury in rats by inhibiting oxidative stress, nf-κb activation, fas/fasl pathway and cytochrome p4502e1 level[J]. Food Chem Toxicol, 50(10): 3413-3420.

LIU QW, GE XD, Chen LG, et al. , 2018. Purification and analysis of the composition and antioxidant activity of polysaccharides from *helicteres angustifolia L*[J]. Int J Biol Macromol, 107(Part B): 2262-2268.

PAN MH, CHEN CM, LEE SW, et al. , 2008. Cytotoxic triterpenoids from the root bark of *Helicteres angustifolia*[J]. Chem Biodivers, 5: 565-574.

SUN S, LI KJ, LEI ZF, et al. , 2018. Immunomodulatory activity of polysaccharide from *helicteres angustifolia L*. on 4t1 tumor-bearing mice[J]. Biomed Pharmacother, 101: 881-888.

SUN S, LI K, XIAO L, et al. , 2019. Characterization of polysaccharide from *helicteres angustifolia L*. And its immunomodulatory activities on macrophages raw264.7[J]. Biomed Pharmacother, 109: 262-270.

WANG MS, LIU WG, 1987. A naphthoquinone from *helicteres angustifolia*[J]. Phytochemistry, 26(2): 578-579.

WANG GC, LI T, WEI YR, et al. , 2012. Two pregnane derivatives and a quinolone alkaloid from *helicteres angustifolia*[J]. Fitoterapia, 83(8): 1643-1647.

WEI YR, WANG GC, ZHANG XQ, et al. , 2011. Studies on chemical constituents in roots of *Helicteres angustifolia*[J]. Chin J Chin Mater Med, 36(9): 1193-1197. [魏映柔，王国才，张晓琦，等，2011．山芝麻化学成分研究[J]．中国中药杂志，36（9）：1193-1197．]

WU WJ, 1987. Introduction to Experimental Techniques for Plant Chemical Protection[M]. Xian: Shanxi Science and Technology Press: 141- 145. [吴文君，1987．植物化学保护实验技术导论[M]．西安：陕西科学技术出版社：141- 145．]

YANG X, LEI Z, YU Y, et al. , 2019. Phytochemical characteristics of callus suspension culture of *helicteres angustifolia L*. And its *in vitro* antioxidant, antidiabetic and immunomodulatory activities[J]. S Afr J Bot, 121: 178-185.